

ТЕСТ-СИСТЕМА «АБ-СТРБ» ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИМИКРОБНОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ СТРЕПТОКОККОВ

*Пинчук А.Н., Окулич В.К., Шилин В.Е., Какойченкова А.К.,
Плотников Ф.В., Кабанова А. А., Колчанова Н.Э.*

УО «Витебский государственный медицинский университет»

Введение. Стрептококковые инфекции относят к числу наиболее распространенных заболеваний бактериальной природы. Первостепенное, доминирующее значение в патологии человека имеют стрептококки серологической группы А [1].

Недостаточная эффективность проводимого лечения хирургической инфекции в определенной мере объясняется наличием у микроорганизмов действенных механизмов защиты от внешних повреждающих факторов. Одним из таких механизмов является способность формировать бактериальные биоплёнки. Имеются указания, что до 80% инфекционных заболеваний связаны с образованием этих микробных структур. В ряде работ показана роль бактериальных плёнок в развитии инфекционных осложнений у больных стоматологического и урологического профиля [2].

В связи с этим возникает необходимость определения чувствительности к антибиотикам стрептококков с учетом способности микроорганизмов формировать биоплёнку с целью рационализации эмпирического выбора антибиотиков и выявления резистентности к новым антибактериальным препаратам для оценки возможности их использования в клинической практике [3].

Цель работы. Разработать комплексную автоматизированную систему для определения антимикробной чувствительности стрептококков с учетом способности микроорганизмов формировать биоплёнку.

Материал и методы. Выбор вида биологического материала осуществлялся с учетом клинического диагноза. Взятие материала производили в первые сутки после поступления пациента в стационар до назначения антибактериальной терапии.

Выделяли чистую культуру микроорганизма согласно инструкции по применению № 075-0210 «Микробиологические методы исследования биологического материала», утвержденной Министерством Здравоохранения Республики Беларусь 13.03.2010 г.

Индикация биопленки производилась спектрофотометрически с помощью окраски раствором кристаллического фиолетового с определением массы микробной биоплёнки.

Для определения массы, полученные на спектрофотометре значения оптической плотности (Еоп), переводили в вес микробной по формуле:

$X = 226,28 \cdot E_{op} \cdot 1,28$, где X – искомая масса биопленки в лунке, Еоп – оптическая плотность лунки.

Результаты и обсуждение. Для оценки чувствительности стрептококков к антибиотикам с учетом способности микроорганизмов формировать биоплёнку нами разработана тест-система «АБ-СТРБ», основой которой является 96-луночный планшет для ИФА, содержащий 8 рядов по 12 лунок и позволяющий определять чувствительность 4-х микроорганизмов к 19 антибиотикам.

Для определения чувствительности к антибиотикам у стрептококков использовались амикацин, амоксициллин+клавулат, ампициллин+сульбактам, бензилпенициллин, имипенем, линезолид, меропенем, моксифлоксацин, ципрофлоксацин; у энтерококков – ампициллин Е, ванкомицин Е, гентамицин Е, левофлоксацин Е, стрептомицин Е, тетрациклин Е, тигециклин Е, фосфомицин Е, хлорамфеникол Е, эритромицин Е («АБ-СТРБ» №1). Антибиотики (моксифлоксацин, левофлоксацин, ципрофлоксацин,

тигециклин, линезолид и фосфомицин) для определения чувствительности стрептококков, образующих биопленку, использовались в тест-системе «АБ-СТРБ» №2.

Для постановки тест-системы «АБ-СТРБ» по определению чувствительности готовили взвесь микроорганизмов. Для этого бактериологической петлей вносили одну или более колоний, выращенных на 5% кровяном Колумбия-агаре в течение 18-24 ч при 37°C, в ампулу с 2 мл стерильного раствора NaCl с массовой долей 0,9%. Оптическая плотность взвеси в ампуле после внесения микроорганизма должна была соответствовать 0,5 единиц МакФарланда. Приготовленную суспензию переносили в ампулу с питательной АБ средой 200 мкл приготовленной взвеси бактерий и тщательно перемешивали, после чего вносили в каждую лунку планшета по 135 мкл питательной среды АБ с микроорганизмами. Планшет накрывали крышкой и инкубировали 18-24 ч при 36±2°C в микроаэрофильных условиях с добавлением 5-10% CO₂.

При визуальном учёте при наличии роста в лунке штамм считали резистентным, а при отсутствии роста – чувствительным к определённому антибиотику. Инструментальный учёт производился с помощью многоканального спектрофотометра АИФ Ф300 на длине волны 570 нм и компьютера с программным обеспечением (программа bactoSTREP зарегистрирована в Национальном центре интеллектуальной собственности, №954 от 06.06.2017).

Выводы.

1. Разработанная тест-система «АБ-СТРБ» позволяет одномоментно определить чувствительность стрептококков и энтерококков к полному спектру антибактериальных препаратов, используемых в клинике, с целью назначения адекватной антибиотикотерапии для лечения гнойно-воспалительных заболеваний.
2. Компьютерная программа bactoSTREP позволяет определять чувствительность стрептококков к антибиотикам с учетом способности образовывать биопленку.

Литература:

1. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология : учеб. / под ред. А. А. Воробьева. – М. : Мед. информ. агентство, 2008. – 791 с.
2. Окулич, В. К. Роль микробных биоплёнок в патогенезе инфекционных процессов на современном этапе / В. К. Окулич, Ф. В. Плотников, А. А. Кабанова // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2012. – № 4. – С. 70–82.
3. Романова, Ю. М. Бактериальные биопленки как естественная форма существования бактерий в окружающей среде и организме хозяина / Ю. М. Романова, А. Л. Гинцбург // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 2011. – № 3. – С. 99–110.

УДК 618:576

ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ И МОРФОЛОГИЯ ТИМУСА У ПЛОДОВ С ЗАДЕРЖКОЙ ВНУТРИУТРОБНОГО РАЗВИТИЯ

Пчельникова Е.Ф., Товсташёв А.Л., Борисевич Д.Г.

УО «Витебский государственный медицинский университет»

Введение. Одной из форм патологии тимуса в рабочей патологической классификации является его врожденная гипо- и гиперплазия (тимомегалия) [1,2]. Увеличение размеров и массы органа в целом, не всегда является основанием для диагностики гиперплазии тимуса, так как его увеличение может быть обусловлено